

Title	Pravastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor, blocks the cell cycle progression but not Ca ²⁺ influx induced by IGF-I in FRTL-5 cells.
Author(s)	多田, 尚人
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/37978
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	多 田 尚 人
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 0 1 8 5 号
学位授与年月日	平成 4 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学研究科 内科系専攻
学位論文名	Pravastatin, a HMG-CoA reductase inhibitor, blocks the cell cycle progression but not Ca^{2+} influx induced by IGF-I in FRTL-5 cells. (TSH, IGF-I による甲状腺細胞増殖に及ぼす HMG-CoA 還元酵素阻害剤の影響)
論文審査委員	(主査) 教 授 宮 井 潔 (副査) 教 授 三 木 直 正 教 授 谷 口 直 之

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

最近, 3 量体の GTP 結合蛋白質の α サブユニットのおよそ半分の分子量をもつ, p21^{ras} などの低分子量 GTP 結合蛋白質が細胞増殖に関与している事が報告されている。これらの低分子量 GTP 結合蛋白質の多くは, C 末端側で細胞膜にアンカリングしてはじめて機能し得るが, その為には C 末端側 Cys のファルネシル化が必須とされる。HMG-CoA 還元酵素阻害剤は, メバロン酸の合成を阻害し, その代謝産物であるファルネシル酸の産生を低下させる事により低分子量 GTP 結合蛋白質の膜への結合を抑制することが知られている。そこで, 本実験ではラット甲状腺細胞 FRTL-5 を用い, HMG-CoA 還元酵素阻害剤プラバスタチンの細胞増殖の諸相に及ぼす影響について検討した。

(方 法)

今回用いた FRTL-5 細胞では次のような性質が知られている。すなわち, FRTL-5 細胞を無血清培地で 48 時間培養すると静止 (Go.) 期となるが, この状態で, コンピテンス因子 TSH で数時間処理する事によりコンピテンス状態 (\simeq G₁ 期) となり, プログレッション因子 IGF-I に反応し得るようになって, その刺激により, S 期にはいる, この IGF-I のプログレッション作用 (G₁ 期 \rightarrow S 期) の発現には IGF-I 刺激後ゆっくりと持続性に起こる Ca^{2+} の細胞内流入が重要な働きをしている。そこで本実験では, この細胞周期の段階を考慮しつつ, 各増殖因子の刺激により生じる DNA 合成, Ca^{2+} の細胞内流入に及ぼすプラバスタチンの影響について調べた。

DNA 合成誘導の測定は, [³H] チミジンの取り込みを指標とした。すなわち, 24 ウェルプレートにサブコンフルエントとした FRTL-5 細胞を無血清 F-12 培地で 48 時間培養し Go. 期細胞とした後, TS

Hで6時間処理しG₁期とした。TSH 洗浄除去後、プログレッション因子と同時に [³H] チミジン (37kBq / ml) を加え、増殖刺激から48時間後にトリクロロ酢酸に不溶な成分の放射活性を測定した。Ca²⁺の細胞内流入測定は、放射性 [⁴⁵Ca²⁺] の単位時間における細胞内取り込みを指標とした。すなわち、3.5cm dish に上と同様の方法で TSH-primed cell を用意し、IGF-I で刺激後30分に [⁴⁵Ca²⁺] (185kBq / ml) を加え、30, 60, 90秒後、氷冷25 mM MgCl₂ 含有 phosphate buffered saline で洗浄、1 N NaOH で細胞を溶解し、その放射活性を測定した。

(成績)

1. TSH のコンピテンス作用に及ぼすプラバスタチンの影響 : Go. 期細胞をTSH 処理してG₁期とし、引き続き IGF-I で刺激すると [³H] チミジンの取り込み、すなわち DNA 合成が誘導される。次に、TSH 処理をプラバスタチン存在下でおこない、洗浄後、IGF-I で刺激した場合も、プラバスタチン非存在下と同様の [³H] チミジンの取り込みが観察された。このことから、プラバスタチンは TSH のプライミング作用に対しては影響を及ぼさないものと考えられる。
2. IGF-I のプログレッション作用に及ぼすプラバスタチンの影響 : TSH 処理したG₁期細胞をプログレッション因子 IGF-I で刺激した時、同時にプラバスタチンを加えると用量依存性に [³H] チミジンの取り込みが低下した。この阻害効果は HMG-CoA 還元酵素の下流の代謝産物であるメバロン酸を同時添加すると消失した為、薬剤の直接の細胞毒性によるのではなく、プラバスタチンが IGF-I のプログレッション作用を抑制したものと考えられる。
3. Ca²⁺ 細胞内流入に及ぼすプラバスタチンの影響 : Go.1期細胞を IGF-I で刺激したとき生じる Ca²⁺ 細胞内流入そのものは、プラバスタチンを加えても変化しなかった。次に、Ca²⁺ チャンネルアゴニスト BAY-K 8644で直接 Ca²⁺ 細胞内流入を起こさせたときに生じる [³H] チミジンの取り込みに対しては、プラバスタチンを加えると用量依存性に抑制が見られた。従って、IGF-I のプログレッション作用に対するプラバスタチンの抑制の作用部位は、Ca²⁺ の流入以降にあると思われる。

(総括)

プラバスタチンは、ラット甲状腺細胞株 FRTL-5 の細胞増殖を抑制した。その抑制は、コンピテンス過程にはみとめられず、IGF-I、BAY-K 8644等のプログレッション作用に対してのものであるが、その際、Ca²⁺ の流入以降において作用していると思われ、この段階で低分子量 GTP 結合蛋白質が関与している可能性があると考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は、ラット甲状腺細胞株 FRTL-5 の細胞増殖に対する、HMG-CoA 還元酵素阻害剤プラバスタチンの影響を検索したものである、その結果、プラバスタチンはコンピテンス因子である TSH の作用には影響を与えず、プログレッション因子 IGF-I の作用を抑制した。この際、IGF-I による Ca²⁺ の流入には影響を与えず、Ca²⁺ チャンネルアゴニスト BAY-K 8644による増殖を抑制した。プラバ

スタチンは低分子量 GTP 結合蛋白質に関与するファルネシル酸の合成を抑制すると考えられ、本論文は、それがカルシウム流入以降の過程において関与する可能性を示唆したものであり、学位論文として充分価値あるものとみとめられる。